

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Konfluen Sel Neuroglia *Baby* Hamster yang Dipapar dengan 7, 12-Dimetilbenz ( $\alpha$ ) Antrasen (DMBA) dalam Kondisi *In Vitro*

Hasil dari uji fitokimia yang dilakukan untuk menguji adanya kandungan fenol, flavonoid dan tanin menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak yang digunakan dalam penelitian ini positif mengandung adanya senyawa fenol, tanin, dan flavonoid (Lampiran 15.). Berdasarkan hasil penelitian dan analisis statistik menggunakan ANAVA tunggal (*One Way ANOVA*), diketahui bahwa  $F_{hitung} > F_{tabel}$  0,05. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) berpengaruh nyata terhadap konfluen sel neuroglia *baby* hamster yang dipapar dengan 7, 12-dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen (DMBA) dalam kondisi *in vitro*. Hasil uji statistik menggunakan ANAVA tunggal ditunjukkan pada tabel 4.1 berikut ini:

Tabel 4.1 Ringkasan ANAVA tunggal tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap konfluen sel neuroglia *baby* hamster yang dipapar dengan 7, 12-dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen (DMBA) dalam kondisi *in vitro*

SK	db	JK	KT	F <sub>hit</sub>	F <sub>tabel</sub> 5%
Perlakuan	6	4411.9	735.32	61.77*	2.85
Galat	14	166.67	11.9		
Total	20	4578.57			

Keterangan: (\*) berbeda nyata

Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, maka dilakukan uji BNT 0.05 (Beda Nyata Terkecil). Uji BNT dilakukan jika nilai KK (Koefisien Keragaman) adalah 5% - 10%. Karena nilai perhitungan KK pada penelitian ini sebesar 9.58% maka digunakan uji BNT. Berdasarkan hasil uji BNT 0.05 dari rata-rata viabilitas sel neuroglia *baby* hamster kultur primer, maka didapatkan notasi BNT 0.05 yang ditunjukkan pada tabel 4.2 berikut:

Tabel 4.2 Ringkasan BNT 0.05 tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap konfluen sel neuroglia *baby* hamster yang dipapar dengan 7, 12-dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen (DMBA) dalam kondisi *in vitro*

Perlakuan	Rata-rata %	Notasi BNT 0.05
P5	11.67	a
P4	20	b
P3	26.67	c
P2	33.33	d
P1	38.33	d
K	40	d
P0	60	e

Keterangan:

1. K : Biakan kultur sel neuroglia tanpa DMBA dan tanpa ekstrak etanol daun sirsak
2. P0 : Biakan sel neuroglia yang telah dipapar dengan DMBA 0.1  $\mu\text{g/mL}$  dan telah diberi ekstrak etanol daun sirsak 0  $\mu\text{g/mL}$
3. P1 : Biakan sel neuroglia yang telah dipapar dengan DMBA 0.1  $\mu\text{g/mL}$  dan telah diberi ekstrak etanol daun sirsak 10  $\mu\text{g/mL}$
4. P2 : Biakan sel neuroglia yang telah dipapar dengan DMBA 0.1  $\mu\text{g/mL}$  dan telah diberi ekstrak etanol daun sirsak 20  $\mu\text{g/mL}$
5. P3 : Biakan sel neuroglia yang telah dipapar dengan DMBA 0.1  $\mu\text{g/mL}$  dan telah diberi ekstrak etanol daun sirsak 40  $\mu\text{g/mL}$
6. P4 : Biakan sel neuroglia yang telah dipapar dengan DMBA 0.1  $\mu\text{g/mL}$  dan telah diberi ekstrak etanol daun sirsak 80  $\mu\text{g/mL}$
7. P5 : Biakan sel neuroglia yang telah dipapar dengan DMBA 0.1  $\mu\text{g/mL}$  dan telah diberi ekstrak etanol daun sirsak 160  $\mu\text{g/mL}$

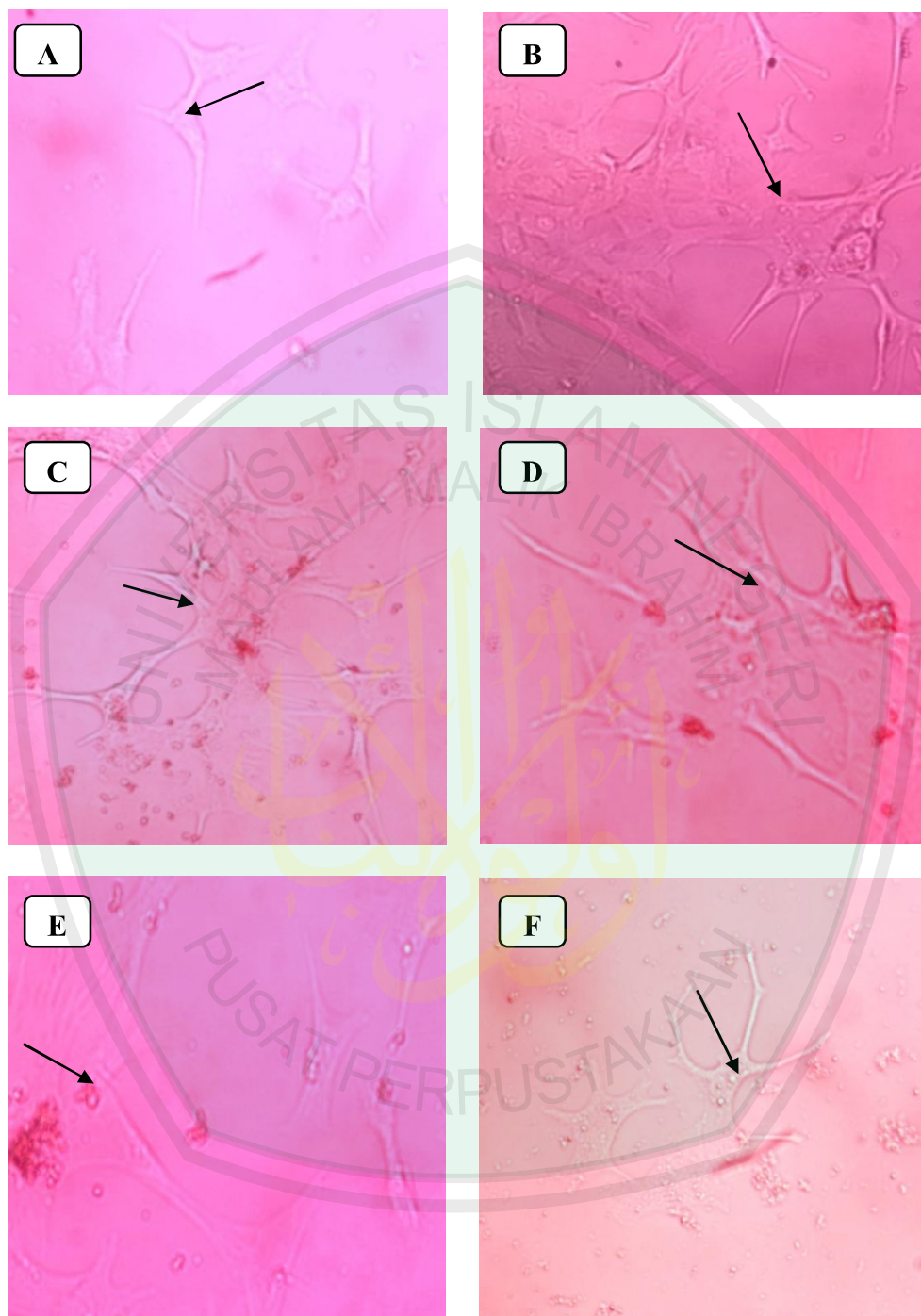
Tabel 4.2 di atas menjelaskan bahwa pemberian ekstrak etanol daun sirsak terhadap tingkat konfluen sel neuroglia *baby* hamster yang dipapar dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen (DMBA) pada perlakuan 5 atau P5 berbeda nyata dengan P4, sedangkan P4 berbeda nyata dengan P3. P3 berbeda nyata dengan P2 sedangkan P2 tidak berbeda nyata dengan P1 dan K. Pada Perlakuan K berbeda nyata dengan perlakuan 0 atau P0.

Berdasarkan hasil BNT 0.05 tersebut maka dapat dijelaskan bahwa ekstrak etanol daun sirsak pada konsentrasi 20  $\mu\text{g/mL}$  berpengaruh terhadap konfluen sel neuroglia yang dipapar dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen (DMBA). Pada kelompok P0 memiliki tingkat konfluen dengan rata-rata tertinggi jika dibandingkan dengan seluruh perlakuan, sedangkan kelompok kontrol (K) berada di urutan kedua setelah P0. P0 mengalami tingkat konfluen yang tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan lain karena pada P0 sel telah mengalami pertumbuhan yang terus menerus (kanker) tanpa ada perlakuan dengan ekstrak etanol daun sirsak.

Hasil uji statistik di atas menunjukkan bahwa, semakin besar konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak yang diberikan kepada sel neuroglia yang dipapar dengan dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen (DMBA) mengakibatkan semakin menurunnya tingkat konfluen dari sel neuroglia. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak yang diberikan, maka semakin menurun pula tingkat pertumbuhan yang dimiliki oleh tersebut. Menurut Trenggono (2009) sel dikatakan tumbuh dan berkembang jika sel tersebut mengalami konfluen atau ekspansi. Jika sel tidak mengalami konfluen atau ekspansi, maka sel tersebut terhambat pertumbuhannya.

Campbell (2002) menyatakan bahwa, sel yang dikultur secara normal membelah hingga sel itu membentuk lapisan tunggal sel pada permukaan dalam dari wadah kulturnya, dimana pada tahap ini sel berhenti membelah. Dalam sistem kultur, sebagian besar sel hewan memperlihatkan ketergantungan penempelan (*anchorage dependence*). Untuk membelah, sel itu harus dilekatkan pada suatu substrat, seperti bagian dalam wadah kultur. Penempelan dikontrol oleh siklus sel melalui jalur yang melibatkan protein membran plasma dan unsur-unsur sitoskeleton yang berhubungan dengan protein membran plasma tersebut. Ketersediaan nutrisi, faktor pertumbuhan, dan substrat untuk penempelan sel membatasi densitas populasi sel tersebut.

Penurunan tingkat konfluen yang dialami oleh sel neuroglia *baby* hamster yang dipapar dengan 7, 12-Dimetilbenz ( $\alpha$ ) Antrasen (DMBA) dan diberi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) terjadi karena banyaknya sel neuroglia yang telah mengalami kematian. Kematian pada sel neuroglia dipicu oleh adanya senyawa kimia yang bersifat sitotoksik pada ekstrak etanol daun sirsak yang menyebabkan perubahan permeabilitas pada membran sel sehingga sel mengalami kematian. Perbedaan tingkat konfluen pada sel neuroglia ditunjukkan pada gambar 4.1 berikut ini:





Gambar 4.1 Sel Neuroglia *Baby* Hamster yang diamati menggunakan mikroskop *inverted* dengan perbesaran 100x A) kelompok kontrol B) konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak 0% C) konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak 10% D) konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak 20% E) konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak 40% F) konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak 80% G) konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak 160%. Tanda panah menunjukkan ekspansi sel pada hari ke-4 yaitu 2 x 24 jam setelah pemberian ekstrak etanol daun sirsak.

Gambar 4.1 di atas menjelaskan bahwa pada kelompok kontrol yang ditunjukkan oleh gambar A memiliki tingkat ekspansi yang lebih lambat jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan. Pada gambar B menunjukkan bahwa sel tersebut mengalami ekspansi yang paling banyak jika dibandingkan dengan gambar-gambar yang lain. Pada gambar C, D, E, F, dan G menunjukkan bahwa, pada tiap-tiap perlakuan memiliki tingkat ekspansi sel yang berbeda-beda. Semakin besar konsentrasi dari ekstrak etanol daun sirsak, ekspansi sel pada masing-masing gambar tersebut menurun.

Trenggono (2009) menyatakan bahwa, pada kultur sel yang berasal dari disagregasi jaringan, sel yang tumbuh dan melekat pada substrat merupakan hasil seleksi dari sel-sel yang ada, sifat dari kultur sel primer yaitu dapat bertahan hidup setelah dilakukan disagregasi dan memiliki sifat *adhesive*, yaitu mampu



melekat pada substrat. Sedangkan pada hari ke-4, kultur primer sel otak fetus hamster telah mengalami konfluen 40%, hasil tersebut menunjukkan bahwa sel telah mengalami pertumbuhan tahap *log phase* (fase eksponensial) yaitu fase dimana sel mengalami peningkatan jumlah sel secara eksponensial dan saat pertumbuhan mencapai konfluen.

Ekspansi antar sel neuroglia dipengaruhi oleh perlekatan sel dengan substrat, dan perlekatan sel dengan sel. Perlekatan sel dengan substrat dibantu oleh adanya protein membran antara lain integrin. Beberapa saat setelah suspensi sel ditumbuhkan dalam substrat, sel mulai menempel pada permukaan cawan yang menjadi substratnya. Penempelan ini akan dilanjutkan dengan pembentukan juluran-juluran sel, kemudian sel akan memipih dan melebar serta berekspansi antara sel satu dengan sel yang lain (Istanti dkk, 1999).

Membran sel yang melekat pada substrat banyak mengandung integrin. Integrin ini akan mengikat substrat atau materi ekstrasel yang melapisi substrat dengan sitoskeleton. Proses perlekatan dengan substrat melibatkan perubahan organisasi sitoskeleton dan protein-protein membran. Pada saat membran sel mulai menempel pada substrat, protein integrin dan mikrofilamen akan berformasi membentuk *focal contact* di tempat membran menempel pada substrat, selanjutnya akan terjadi perlekatan sel dengan sel. *Focal contact* merupakan bentuk lain dari struktur yang mengikatkan sel dengan substrat.

Perlekatan sel neuroglia satu dengan yang lain dipengaruhi oleh adanya protein integral membran yaitu N-chaderin (Istanti dkk, 1999). N-chaderin mengikat sel neuroglia yang satu dengan yang lain melalui ikatan antara chaderin

yang terdapat pada permukaan kedua sel. Bentuk ikatan tersebut menyebabkan interaksi antara sel yang sejenis, sehingga terbentuklah ekspansi sel seperti pada gambar 4.1.

Sel kanker dan sel normal memiliki karakteristik khusus jika dalam sistem kultur. Menurut Campbell (2002), pada proses pembelahan sel dalam konsep kultur terdapat ketentuan inhibisi tergantung-densitas. Inhibisi tergantung-densitas dan ketergantungan penempelan juga berfungsi di dalam jaringan tubuh seperti halnya dalam sistem kultur sel yaitu pertumbuhan sel sampai tercapainya densitas dan lokasi yang optimal. Jika sebagian sel dikeluarkan, sel yang berada pada batas celah yang terjadi akan membelah hingga celah ini terisi kembali dengan lapisan tunggal. Sedangkan pada sel kanker dapat mentolerir kepadatan dan biasanya terus membelah melebihi satu lapisan tunggal, dan membantu lapisan sel yang tumpang tindih. Sel kanker tidak memiliki ketentuan inhibisi tergantung-densitas maupun ketergantungan penempelan.

Penurunan tingkat ekspansi sel berhubungan dengan semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak yang diberikan berdasarkan masing-masing perlakuan. Penurunan ekspansi terjadi karena bahan aktif yang berada dalam ekstrak etanol daun sirsak yaitu *Acetogenin* telah menghentikan suplai ATP pada saat transpor elektron. Pemberhentian suplai ATP dalam sel ini mengakibatkan sel kehabisan energi dan tidak mampu berlekatan satu sama lain maupun berlekatan dengan substrat sehingga sel mengelupas dari substrat dan mengalami kematian.



#### 4.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Viabilitas Sel Neuroglia *Baby* Hamster yang Dipapar dengan 7,12-Dimetilbenz ( $\alpha$ ) Antrasen (DMBA) dalam Kondisi *In Vitro*

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis statistik menggunakan ANAVA tunggal (*One Way ANOVA*), diketahui bahwa  $F_{hitung} > F_{tabel}$  0,01. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) berpengaruh sangat nyata terhadap viabilitas sel neuroglia *baby* hamster yang dipapar dengan 7, 12-dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen (DMBA) dalam kondisi *in vitro*. Hasil uji statistik menggunakan ANAVA tunggal ditunjukkan pada tabel 4.3 berikut ini:

Tabel 4.3 Ringkasan ANAVA tunggal tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap viabilitas sel neuroglia *baby* hamster yang dipapar dengan 7, 12-dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen (DMBA) dalam kondisi *in vitro*

SK	db	JK	KT	Fhit	5%	1%
Perlakuan	6	4248.514	708.1	113.35**	2.85	4.46
Galat	14	87.4592	6.25			
Total	20	4335.9732				

Keterangan: (\*\*) berbeda sangat nyata

Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, maka dilakukan uji BNJ 0.01 (Beda Nyata Jujur). Uji BNJ dilakukan jika nilai KK (Koefisien Keragaman) maksimal 5%. Karena nilai perhitungan KK pada penelitian ini sebesar 4.3% maka digunakan uji BNJ. Berdasarkan hasil uji BNJ dari rata-rata viabilitas sel

neuroglia *baby* hamster kultur primer, maka didapatkan notasi BNJ 0.01 yang ditunjukkan pada tabel 4.4 berikut:

Tabel 4.4 Ringkasan BNJ 0.01 tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap viabilitas sel neuroglia *baby* hamster yang dipapar dengan 7, 12-dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen (DMBA) dalam kondisi *in vitro*

Perlakuan	Rata-rata %	Notasi BNJ 0.01
P5	28.87	a
P4	36.48	b
P3	48.18	c
P2	55.28	c
P1	59.33	d
K	65.58	e
P0	71.41	f

Keterangan:

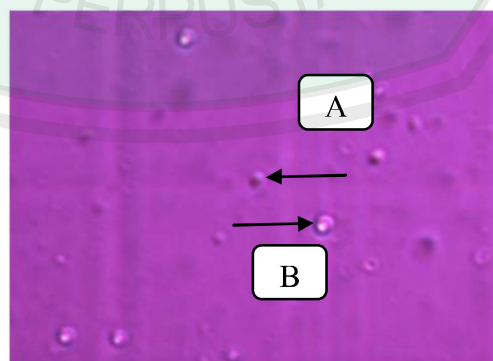
1. K : Biakan kultur sel neuroglia tanpa DMBA dan tanpa ekstrak etanol daun sirsak
2. P0 : Biakan sel neuroglia yang telah dipapar dengan DMBA 0.1  $\mu\text{g/mL}$  dan telah diberi ekstrak etanol daun sirsak 0  $\mu\text{g/mL}$
3. P1 : Biakan sel neuroglia yang telah dipapar dengan DMBA 0.1  $\mu\text{g/mL}$  dan telah diberi ekstrak etanol daun sirsak 10  $\mu\text{g/mL}$
4. P2 : Biakan sel neuroglia yang telah dipapar dengan DMBA 0.1  $\mu\text{g/mL}$  dan telah diberi ekstrak etanol daun sirsak 20  $\mu\text{g/mL}$
5. P3 : Biakan sel neuroglia yang telah dipapar dengan DMBA 0.1  $\mu\text{g/mL}$  dan telah diberi ekstrak etanol daun sirsak 40  $\mu\text{g/mL}$
6. P4 : Biakan sel neuroglia yang telah dipapar dengan DMBA 0.1  $\mu\text{g/mL}$  dan telah diberi ekstrak etanol daun sirsak 80  $\mu\text{g/mL}$
7. P5 : Biakan sel neuroglia yang telah dipapar dengan DMBA 0.1  $\mu\text{g/mL}$  dan telah diberi ekstrak etanol daun sirsak 160  $\mu\text{g/mL}$

Tabel 4.4 di atas menjelaskan bahwa pemberian ekstrak etanol daun sirsak terhadap tingkat viabilitas sel neuroglia *baby* hamster yang dipapar dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen (DMBA) pada perlakuan 5 atau P5 berbeda sangat nyata dengan P4,

P4 juga menunjukkan berbeda sangat nyata dengan P3, sedangkan P3 tidak berbeda nyata dengan P2 tetapi P2 berbeda sangat nyata dengan P1. Pada Perlakuan kontrol atau K sangat berbeda nyata dengan P0.

Berdasarkan hasil BNJ 0.01 tersebut maka dapat dijelaskan bahwa ekstrak etanol daun sirsak pada konsentrasi 10  $\mu\text{g/mL}$  berpengaruh terhadap sel neuroglia *baby* hamster yang dipapar dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen (DMBA). Pada kelompok P0 memiliki tingkat viabilitas dengan rata-rata tertinggi jika dibandingkan dengan seluruh perlakuan, sedangkan kelompok kontrol (K) berada di urutan kedua setelah P0.

Viabilitas sel adalah kemungkinan sel untuk dapat hidup. viabilitas sel menunjukkan respon sel jangka pendek seperti konfluen sel perubahan permeabilitas membrane atau adanya jalur metabolisme tertentu dalam sel. viabilitas sel merupakan perbandingan jumlah sel yang hidup dan sel yang mati (Wulandari, 2003). Uji viabilitas dilakukan dengan menggunakan *tripan blue* seperti yang terlihat pada gambar 4.2 berikut:



Gambar 4.2 Sel neuroglia *baby* hamster kultur primer pada saat penghitungan viabilitas dengan *tripan blue* yang diamati menggunakan mikroskop inverted dengan perbesaran 100x: (A) sel neuroglia yang mengalami apoptosis dan (B) sel neuroglia yang masih hidup

Gambar 4.2 di atas menunjukkan bahwa pada gambar A sel terlihat berwarna gelap dan gambar sel terlihat terang. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada gambar A, sel mengalami kematian atau apoptosis sehingga membran sel tersebut rusak dan mampu menyerap warna dari *tripan blue*. Sedangkan pada gambar B, sel terlihat terang karena sel tersebut masih hidup dan tidak mengalami kerusakan membran sehingga *tripan blue* tidak dapat masuk dan terserap oleh sel.

Menurut Trenggono (2009), *tripan blue* tidak mengubah integritas membran plasma, memperlambat proses kematian sel, dan memfasilitasi identifikasi sel yang akan dilihat dengan mikroskop. Sel yang masih hidup akan berpendar dan berwarna bening sedangkan sel yang mati akan menyerap *tripan blue* karena permeabilitas membrannya telah rusak, sehingga sel yang mati akan terwarnai biru (Sukardiman, 2006). Penurunan viabilitas yang terjadi pada sel neuroglia yang dipapar dengan dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen (DMBA), dikarenakan banyaknya sel mengalami kematian yang diduga diakibatkan oleh adanya senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak etanol daun sirsak yaitu *Annonaceous acetogenin*.

Kematian atau apoptosis pada sel neuroglia yang telah dipapar dengan dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen (DMBA) dan telah diberi ekstrak etanol daun sirsak terjadi karena, sel mengalami kekurangan ATP untuk bertahan hidup. ATP yang dihasilkan pada respirasi selular tidak dapat diproduksi karena terganggunya rantai transpor elektron. Hal ini disebabkan bahan aktif dalam daun sirsak yaitu *Acetogenin* memblokir jalan masuk rangkaian respirasi seluler pada mitokondria

kompleks 1. Sehingga sel kehabisan ATP dan tidak dapat bertahan hidup sehingga sel tersebut mati.

Menurut Kresna (2003), apoptosis adalah kematian sel terprogram yang merupakan proses penting dalam pengaturan *homeostasis* normal. Secara fisiologis, sistem pertumbuhan sel dalam individu diatur oleh suatu sistem keseimbangan, yaitu apoptosis dan proliferasi. Apabila pada individu terjadi apoptosis yang berlebihan, maka individu tersebut akan mengalami kemunduran fungsi dari suatu sistem organ yang dapat menimbulkan suatu penyakit. Demikian juga halnya bila terjadi proliferasi sel secara berlebihan, maka akan terjadi massa tumor (*malignancy*) (Sudiana, 2009).

Proses dalam pertumbuhan sel membutuhkan keseimbangan, baik itu proliferasi maupun apoptosis. Apabila sel mengalami abnormalitas maka sel tersebut akan secara alami membunuh dirinya sendiri melalui apoptosis. Jika keduanya berjalan tidak seimbang maka akan terjadi dampak yang tidak baik bagi pertumbuhan individu itu sendiri. Allah berfirman dalam surat Al-Mulk ayat 3, yaitu:

الَّذِي خَلَقَ سَبْعَ سَمَاوَاتٍ طِبَاقًا ۚ مَا تَرَىٰ فِي خَلْقِ الرَّحْمَنِ مِن تَفَوتٍ ۚ فَأَرِجْ  
الْبَصَرَ هَلْ تَرَىٰ مِن فُطُورٍ ﴿٣﴾

*"yang telah menciptakan tujuh langit berlapis-lapis. kamu sekali-kali tidak melihat pada ciptaan Tuhan yang Maha Pemurah sesuatu yang tidak seimbang. Maka lihatlah berulang-ulang, Adakah kamu Lihat sesuatu yang tidak seimbang?" (Q.S Al-Mulk: 3).*

Maksud dari kalimat *ما ترى في خلق الرحمن من تفوت* adalah semua ciptaan Allah saling bersesuaian dan seimbang. Tidak ada pertentangan, benturan, ketidakcocokan, kekurangan dan kerusakan (Abdullah, 2006). Shihab (2003) menjelaskan bahwa Allah menciptakan seluruh makhluk dalam keadaan seimbang sebagai rahmat, karena seandainya ciptaan-Nya tidak seimbang, maka tentulah akan terjadi kekacauan.

Kata seimbang pada firman Allah di atas dapat diartikan sebagai keadaan yang homeostasis. Seperti halnya proses keseimbangan dalam proses pertumbuhan sel. Apabila antara proses proliferasi dan apoptosis tidak berjalan dengan seimbang maka akan berdampak buruk bagi kelangsungan hidup sistem pada suatu organisme.

Menurut Villo (2008), *Acetogenin* memiliki bagian penting dalam strukturnya yaitu bagian *tetrahydrofuran* (THF) dan bagian  $\gamma$ -lacton. *Tetrahydrofuran* (THF) membantu struktur acetogenin masuk ke dalam sel karena bersifat hidrofilik sehingga dapat berikatan dengan lipid membran mitokondria. Mekanisme kerja *Acetogenin* yaitu menghambat ikatan respirasi pada mitokondria (kompleks 1). Pada struktur kimia acetogenin terdiri dari  $\gamma$ -lacton yang berfungsi sebagai penghambat karena dapat berikatan dengan enzim ubiquinon pada transfer elektron.

Ikatan antara  $\gamma$ -lacton dengan enzim ubiquinon menyebabkan perubahan permeabilitas pada membrane sehingga enzim sitokrom  $\alpha$  keluar dan mengaktifkan protein *Apaf-1* yang merupakan faktor apoptosis. *Apaf-1* kemudian akan mengaktifkan enzim *kaskade kaspase* yang selanjutnya *kaskade kaspase*



tersebut akan mengaktifkan enzim DNase. Enzim DNase tersebut akan masuk ke dalam inti dan memfragmentasi DNA sehingga terjadi apoptosis.

#### **4.3 Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Sitotoksitas Sel Neuroglia *Baby* Hamster yang Dipapar dengan 7, 12-Dimetilbenz ( $\alpha$ ) Antrasen (DMBA) dalam Kondisi *In Vitro***

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis statistik dengan menggunakan analisis probit diperoleh *Letal Concentration* ( $LC_{50}$ ) tentang pengaruh pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap sitotoksitas sel neuroglia *baby* hamster yang dipapar dengan 7, 12-Dimetilbenz ( $\alpha$ ) Antrasen (DMBA), diperoleh nilai  $LC_{50}$  sebesar 27.64  $\mu\text{g/mL}$ .

Hasil tersebut dapat diartikan bahwa ekstrak etanol daun sirsak dengan konsentrasi 27.64  $\mu\text{g/mL}$  mampu mematikan 50% dari total seluruh sel neuroglia yang telah dipapar DMBA. Hal tersebut juga mengindikasikan bahwa ekstrak etanol daun sirsak dapat dijadikan sebagai alternatif pengobatan kanker karena memiliki nilai  $LC_{50}$  dengan konsentrasi rendah.

Menurut Meyer (1982), apabila nilai  $LC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$  maka zat tersebut bersifat sitotoksik atau berpotensi sebagai antikanker. Djajanegara (2009) menambahkan bahwa, jika nilai  $LC_{50}$  yang diperoleh pada uji sitotoksitas lebih besar dari 30  $\mu\text{g/mL}$  maka dosis tersebut tidak dapat direkomendasikan sebagai alternatif pengobatan. Hal tersebut dikarenakan, apabila konsentrasi semakin tinggi maka sel-sel yang normal yang belum berubah menjadi sel kanker juga akan mengalami kematian. Oleh karena itu, penggunaan dosis yang berlebihan

dan tidak tepat akan mengakibatkan rusaknya lingkungan yang ada dalam sel tersebut. Allah berfirman dalam surat Al-Furqaan ayat 2 yaitu:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا ﴿٢﴾

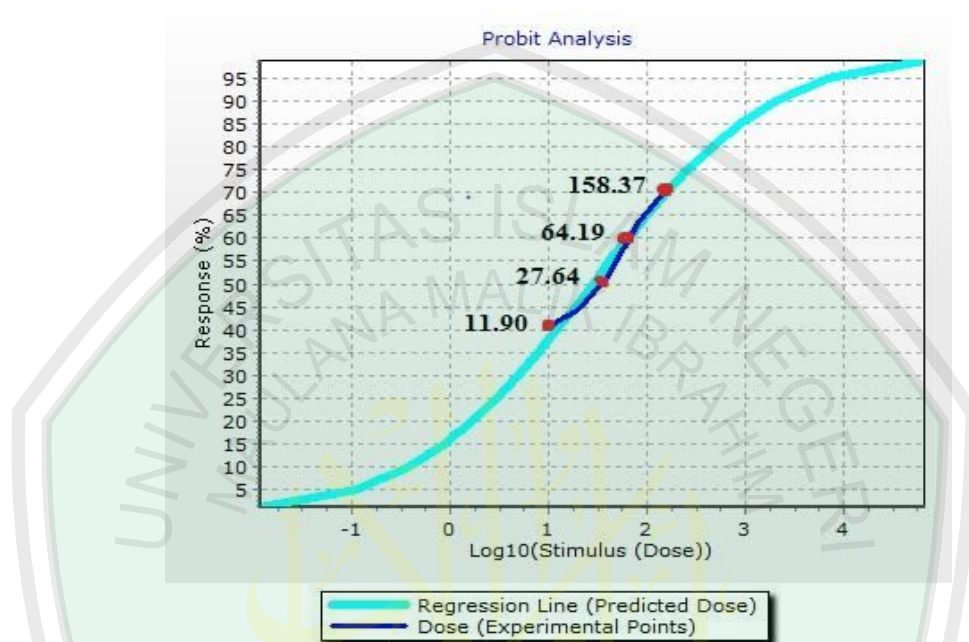
*"yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan Dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu baginya dalam kekuasaan(Nya), dan Dia telah menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya" (Q.S Al-Furqaan: 2).*

Kata *فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا* pada ayat di atas menjelaskan bahwasanya Dia (Allah) telah menetapkan suatu ukuran dengan serapi-rapinya tanpa ada cela atau kebengkokan di dalamnya. Tidak perlu ada penambahan atau pengurangan walaupun dengan alasan untuk suatu hikmah atau maslahat. Semua yang Allah tentukan adalah demi kemaslahatan manusia (Al-Jazairi, 2008).

Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah telah menciptakan segala sesuatu sesuai dengan ukurannya. Jadi Allah telah menciptakan segala sesuatu yang sesuai dengan kadar atau ukuran tertentu. Begitu juga dengan ekstrak etanol daun sirsak yang digunakan untuk pengobatan, harus sesuai dengan kapasitas kebutuhan yang diperlukan sehingga tidak menimbulkan efek negatif jika kelebihan maupun kekurangan.

Hasil yang diperoleh dari analisis probit juga menunjukkan bahwa konsentrasi dosis dari ekstrak etanol daun sirsak yang mulai berpengaruh terhadap sel neuroglia *baby* hamster yang telah dipapar dengan dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen

(DMBA) adalah 11.90  $\mu\text{g/mL}$  sampai dengan konsentrasi 158.4  $\mu\text{g/mL}$ . Hasil tersebut ditunjukkan oleh gambar grafik 4.3 berikut ini:



Gambar 4.3 Grafik Hubungan Antar-Perlakuan dengan Kematian Sel Kanker

Grafik di atas memperlihatkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak mempunyai potensi mengandung senyawa bioaktif yang tinggi karena ekstrak tersebut dapat mematikan hewan uji lebih dari 50 % dengan konsentrasi yang rendah yaitu sebesar 27.64  $\mu\text{g/mL}$ . Pada konsentrasi 11.90  $\mu\text{g/mL}$  ekstrak etanol daun sirsak dapat mematikan 40% sel neuroglia. Pada konsentrasi 64.19  $\mu\text{g/mL}$  ekstrak etanol daun sirsak dapat mematikan 60% sel neuroglia. Jika respon dari ekstrak etanol daun sirsak yang diinginkan dapat mematikan 70% dari total keseluruhan sel neuroglia yang dipapar DMBA, maka dosis yang digunakan adalah ekstrak dengan konsentrasi 158.37  $\mu\text{g/mL}$ . Ekstrak etanol daun sirsak

potensial mengandung senyawa bioaktif antikanker karena memiliki bioaktivitas yang sangat tinggi terhadap sel neuroglia yang dipapar dengan dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen dalam kondisi *in vitro*.

Uji sitotoksitas dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa toksik yang ada dalam suatu ekstrak atau obat-obatan. Senyawa sitotoksik adalah senyawa yang bersifat toksik pada sel tumor secara *in vitro* dan jika toksisitas ini ditransfer menembus sel tumor *in vivo* senyawa tersebut mempunyai aktivitas antitumor (Heti, 2008). Senyawa yang berpotensi sebagai antikanker dan bersifat sitotoksik terhadap sel kanker pada ekstrak etanol daun sirsak adalah *Annonaceous Acetogenin*.

Senyawa aktif yang memiliki daya bioaktivitas tinggi diketahui berdasarkan nilai *Lethal Concentration* 50 % ( $LC_{50}$ ), yaitu suatu nilai yang menunjukkan konsentrasi zat toksik yang dapat menyebabkan kematian hewan uji sampai 50 %. Data kematian yang diperoleh kemudian diolah dengan probit analisis yang dirumuskan oleh Finney (1971) untuk menentukan nilai  $LC_{50}$  (Meyer, 1982).